ECOLE NATIONALE VÉTÉRINAIRE DE TOULOUSE

ANNÉE 1963 N° 19

Propriétés Pharmacodynamiques des FARINES DE LUZERNE

THÈSE

pour le doctorat vétérinaire

(Diplôme d'Etat)

présentée et soutenue publiquement en Novembre 1963
devant la
Faculté Mixte de Médecine et de Pharmacie de Toulouse

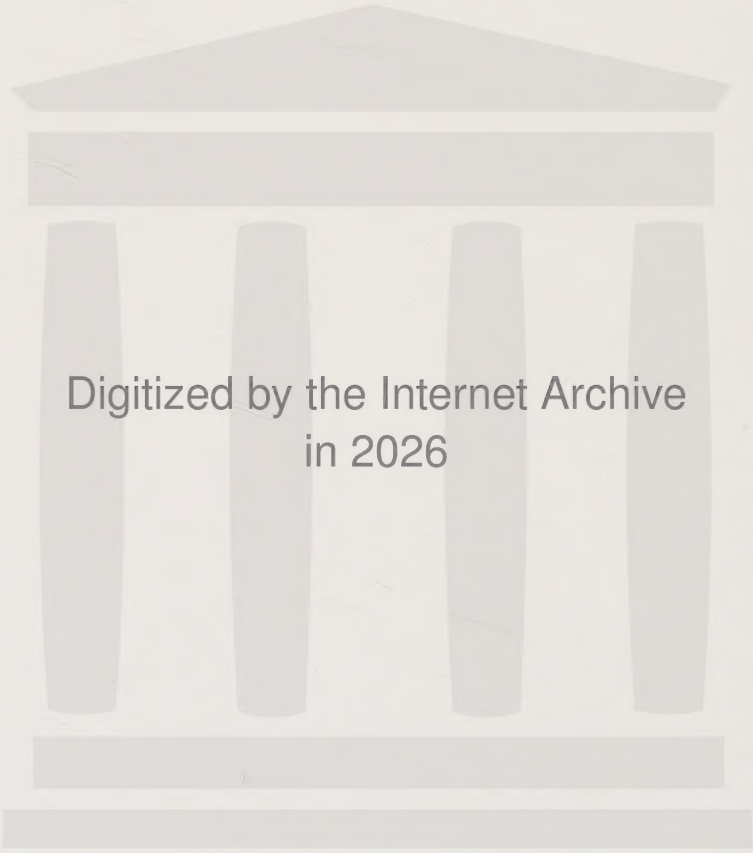
PAR

Hubert François GRANTE

Né le 13 Mars 1937, à EPINAY-sur-SEINE (Seine)

Président : M. ROUX, Professeur à la Faculté de Médecine de Toulouse

Assesseurs { M. LE BARS, Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse
M. FALIU, Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse


Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41546524_0026

PROPRIÉTÉS PHARMACODYNAMIQUES DES FARINES DE LUZERNE

ECOLE NATIONALE VÉTÉRINAIRE DE TOULOUSE

ANNÉE 1963 N° 19

Propriétés Pharmacodynamiques des FARINES DE LUZERNE

THÈSE

pour le doctorat vétérinaire

(Diplôme d'Etat)

présentée et soutenue publiquement en Novembre 1963
devant la
Faculté Mixte de Médecine et de Pharmacie de Toulouse

PAR

Hubert François GRANTE

Né le 13 Mars 1937, à EPINAY-sur-SEINE (Seine)

Président : M. ROUX, Professeur à la Faculté de Médecine de Toulouse

Assesseurs { M. LE BARS, Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse
M. FALIU, Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

IMPRIMERIE MENDIBOURE
97-99, avenue Daumesnil
PARIS
—
1963

R. UNIV. BIBLIOTHEEK LEIDEN

MINISTÈRE DE L'AGRICULTURE

ECOLE NATIONALE VETERINAIRE DE TOULOUSE

	MM.
Directeur	PONS.
Professeur Honoraire	LASSERRE.

PERSONNEL ENSEIGNANT

PROFESSEURS

Chaire de Pharmacie - Toxicologie Physique et Chimie Biologique Pharmacie et Toxicologie	GODFRAIN
Chaire de Physique et Chimie Biologiques et Médicales Physique et Chimie Biologiques et Médicales	RICO
Chaire d'Anatomie des Animaux domestiques Anatomie descriptive - Extérieur Anatomie appliquée	PAVAUX
Chaire de Physiologie - Thérapeutique Physiologie Thérapeutique et Pharmacodynamie	LE BARS
Chaire d'Histologie - Anatomie Pathologique Histologie et Embryologie Anatomie Pathologique	LOMBARD
Chaire d'Inspection et Contrôle des Denrées Alimentaires Inspection des Viandes Inspection du Lait	LABIE
Chaire de Parasitologie Zoologie appliquée Parasitologie externe Parasitologie interne Clinique	BRIZARD
Chaire de Pathologie Médicale des Equidés et Carnivores Pathologie médicale des équidés et carnivores Législation vétérinaire Clinique	DARRASPEN
Chaire de Pathologie Médicale du Bétail et animaux de basse-cour Pathologie médicale du bétail et des animaux de basse-cour Clinique Clinique externe	TOURNUT
Chaire de Pathologie Chirurgicale Technique chirurgicale Pathologie chrirurgicale Clinique	PUGET

Chaire de Pathologie de la Reproduction	BERTHELON
Pathologie de la Reproduction	
Obstétrique	
Clinique	
Chaire de Parhologie des Maladies Contagieuses	SAURAT
Microbiologie - Immunologie	
Maladies contagieuses - Police sanitaire	
Chaire de Zootechnie	PONS
Ethnologie	
Hygiène	
Zootechnie	
Économie Rurale	
Chaire d'Alimentation	FALIU
Botanique appliquée	
Agronomie	
Alimentation	

CHEFS DE TRAVAUX

Maladie Contagieuses	LAUTIÉ, Agrégé
Pathologie Médicale - Législation Vétérinaire	LESCURE, Agrégé.
Pathologie Chirurgicale	CAZIEUX
Pathologie de la Reproduction	ROYAL
Chimie	MILHAUD
Physiologie	FARGEAS
Pathologie Médicale du Bétail et des Animaux de basse-cour	ESPINASSE

COURS COMPLÉMENTAIRES - CHARGES D'ENSEIGNEMENT

Radiologie	AUVERGNAT
Droit Vétérinaire	LINON
Botanique	MORQUER
Pisciculture	SECONDAT
Agronomie	BRISEBOIS
Économie Rurale	MARTINOT

La faculté et l'École déclarent n'être pas responsables des opinions émises par les candidats. (Délibération de la Faculté, en date du 10 mai 1891 et du Conseil de l'École, en date du 13 juin 1924).

A MES PARENTS

A MA FEMME

A MA FAMILLE

A TOUS MES AMIS

A notre Président de Thèse :

M. le Professeur ROUX

Professeur d'Histoire Naturelle
à la Faculté de Médecine de Toulouse.

Qui nous a fait le très grand honneur d'accepter la présidence de notre jury de thèse.

Hommage respectueux.

A notre Jury de Thèse :

A M. le Professeur LE BARS

Professeur de Physiologie et de Thérapeutique générale
à l'École Nationale Vétérinaire de Toulouse

Qu'il trouve ici l'expression de notre profonde gratitude pour les encouragements qu'il nous a toujours prodigués et les conseils éclairés dont il nous a fait bénéficier au cours de l'élaboration de cette thèse.

à M. le Professeur FALIU

Professeur d'Alimentation
à l'École Nationale Vétérinaire de Toulouse

Qui a bien voulu faire partie de notre jury de thèse

A M. FARGEAS

Chef de Travaux de Physiologie et de Thérapeutique
à l'École Nationale Vétérinaire de Toulouse

Qui nous a aidé et conseillé dans notre travail, en témoignage de notre profonde gratitude.

A TOUS NOS MAITRES

de l'École Nationale Vétérinaire de Toulouse

A TOUTE L'ÉQUIPE DU LABORATOIRE DE PHYSIOLOGIE

INTRODUCTION

La valeur hygiénique d'un aliment n'est pas seulement représentée par ses propriétés nutritives, mais en dehors d'actions toxiques, certaines propriétés pharmacodynamiques en particulier l'action sur la motricité du tube digestif, doivent être prises en considération.

Ces propriétés peuvent avoir des incidences en pathologie. Par exemple, l'intolérance au gluten de blé de régime a été reconnue comme fait majeur, dans la pathogénie des maladies cœliaques ainsi que dans celle des stéatorrhées idiopathiques.

Certaines fractions du gluten affaiblissent le réflexe péristaltique du jéjunum de rat *in vitro* (Schneider, Bishop et Shaw, 1960).

Il est aujourd'hui prouvé que la libération d'acétylcholine par le jéjunum est diminuée par ces extraits de gluten aussi bien au repos qu'après stimulation électrique. Les auteurs concluent que dans ce phénomène, deux mécanismes contribuent à l'affaiblissement du rendement de l'acétylcholine par les fractions de gluten : d'une part, intervient un affaiblissement de la synthèse, d'autre part il y a une diminution de la mise en liberté de son précurseur inactif. Ce dernier mécanisme jouant le rôle prépondérant (12).

Dans un domaine voisin plus spéculatif, Simonnet, Le Bars et Chapeville en 1952, montrent, en étudiant l'action des extraits aqueux de certains végétaux sur la motricité du duodénum, que les résultats obtenus diffèrent suivant l'espèce animale et suivant l'extrait utilisé, ainsi qu'en témoigne le tableau I qui résume les résultats obtenus.

Il est intéressant de noter en particulier, l'effet contracturant des feuilles de betteraves, de brome, de sarrazin, de trèfle, de vesce et de luzerne (8).

Tableau 1

	Cheval	Lapin et Porc	Bœuf
RACINES :			
Betterave	0	0	0
FEUILLES :			
Betterave	++	— —	0
Brome	++	— —	0
Chou	0	—	0
Chicorée	—	—	0
Fougère	0	—	0
Luzerne	++	—	0
Sarrazin	+	—	0
Soja	0	—	0
Trèfle des prés	+	—	0
Vesce	++	—	0
GRAINS :			
Avoine	0	0	0
Blé	0	0	0
Maïs	0	0	0
Orge	0	0	0
Seigle	0	0	0

0 = Absence d'action.
+ = Effet moteur.
— = Effet inhibiteur.

(d'après Simonnet, Le Bars, Chapeville (1952).

Ces auteurs concluaient que les analyses chimique et biologique des aliments ne rendent pas nécessairement compte de toutes leurs propriétés. Ces méthodes devraient être complétées par l'analyse pharmacodynamique et en particulier, par l'étude systématique de l'action des aliments sur la motricité et le transit digestif.

C'est ce que nous nous sommes efforcé de faire dans ce travail en concentrant nos recherches plus spécialement sur un aliment : la luzerne et une de ses présentations commerciales : la farine de luzerne.

Il a été recherché les résultats obtenus en variant, tantôt l'animal en cause, tantôt les divers organes d'un même animal, mais surtout en variant la nature des farines de luzerne.

Dans une première partie de bibliographie, une mise au point résumera ce qui est déjà acquis dans le domaine des propriétés des farines de luzerne.

Dans une seconde partie, nous exposerons les expériences que nous avons effectuées.

Enfin, avant de tirer les conclusions de nos recherches, un autre chapitre sera consacré à la discussion des résultats et à l'étude des conséquences pratiques.

Chapitre premier

CONNAISSANCES ACTUELLES SUR LA QUESTION

1° La fréquence des troubles intestinaux chez le cheval et leur association fréquente avec l'alimentation conduisent Simonnet, Le Bars et Chapeville à rechercher si l'intestin des animaux de cette espèce ne présentait pas une sensibilité particulière vis-à-vis de substances présentes dans l'alimentation.

Dans une première série d'essais, ils étudient l'influence des extraits de différents végétaux sur la motricité *in vitro* du duodénum de quatre espèces : cheval, bœuf, porc, lapin.

Les résultats sont consignés dans le tableau I que nous avons déjà vu.

Dans les conditions des expériences, les extraits peuvent se diviser en trois groupes :

— Extraits contracturants sur le duodénum de cheval et inhibiteur sur le duodénum de lapin et de porc.

— Extraits inhibiteurs sur le duodénum des trois espèces.

— Extraits inactifs sur le duodénum de cheval et inactifs ou légèrement inhibiteurs chez le lapin.

Ces résultats montrent que la sensibilité du duodénum d'espèces animales différentes vis-à-vis d'une même substance est différente.

Tandis que le duodénum de cheval répond généralement par une élévation du tonus ou une contraction, le duodénum de lapin et du porc, réagit par une inhibition. Ce résultat est à rapprocher de celui obtenu avec l'adrénaline : contraction chez le cheval, inhibition chez le porc et le lapin (13).

Ces auteurs entreprennent d'autres recherches, utilisant pour des raisons de commodités techniques, l'extrait de feuille de betterave; ils recherchent quel est son comportement vis-à-vis de la bile au contact de laquelle le principe actif peut se trouver dans les conditions normales de l'alimentation du cheval.

Les résultats peuvent être résumés de la façon suivante : l'addition au bain de Tyrode (150 cm^3) contenant le duodénum de 0,5 cm^3 de bile de cheval fraîchement prélevée dans le canal cholédoque, détermine une légère diminution de l'amplitude des contractions automatiques de l'organe et une faible chute du tonus musculaire de base.

Si, une ou deux minutes après l'addition de bile de cheval au bain de Tyrode, on soumet le duodénum à l'action de l'extrait de feuilles de betterave à la concentration de 1.10^{-6} à 1.10^{-5}, on obtient une contraction identique à celle déterminée par l'extrait agissant seul.

Par contre, le contact à la température du laboratoire de 1 cm^3 d'extrait et de 0,5 cm^3 de bile de cheval pendant soixante minutes, supprime complètement l'action contracturante de l'extrait.

L'effet inhibiteur de la bile ne se manifeste pas à 0 °C, même après vingt-quatre heures de contact; à 38 °C, l'inhibition se produit en trente minutes. Tous les échantillons de bile de cheval étudiés exercent cette action inhibitrice.

L'effet inhibiteur peut également être obtenu avec le sérum de cheval. Le sérum ajouté à la dose de 0,5 cm^3 au bain de Tyrode détermine une légère augmentation du tonus de base du duodénum mais ne modifie pas l'action contracturante de l'extrait de feuille de betterave. Par contre, le contact du sérum et de l'extrait pendant au moins soixante minutes à la température du laboratoire, fait disparaître le pouvoir contracturant de l'extrait.

Sur quatorze sérums individuels étudiés, l'effet inhibiteur a été retrouvé douze fois, les deux autres sérums n'ont pas modifié la réponse du duodénum à l'extrait.

Le chauffage de la bile et du sérum pendant sept minutes à 70 °C supprime l'action inhibitrice, dans des conditions qui font penser à une action enzymatique (14).

In vivo chez le cheval, Simonnet et coll. (1952) (15) enregistrant la motricité du duodénum, injectent par voie veineuse 3 ml/100 kg de poids vif d'extrait de feuilles de betterave correspondant à 20 g de feuilles fraîches pour 100 kg. Ils notent alors une hausse persistante du tonus musculaire de base sans modification de l'amplitude des contractions automatiques.

2° Sur le duodénum isolé de lapin, les extraits de feuilles de betterave, de brome, de chou, de chicorée, de fougère, de luzerne, de sarrazin, de soja, de trèfle des prés, de vesce, sont plus ou moins inhibiteurs. Cette inhibition est caractérisée par une chute plus ou moins grande du tonus musculaire de base, accompagnée ou non d'une diminution de l'amplitude des contractions.

Les extraits de graines de même que l'extrait de pulpes sèches sont sans action. Un seul échantillon (d'après Delafolie) a montré un effet contracturant : l'extrait de pulpes fraîches (2).

Evans et Evans (1948) (3) étudiant les extraits de diverses plantes, ont démontré que la motricité du duodénum isolé de lapin était modifiée lorsqu'on ajoutait de l'extrait de trèfle ou de luzerne; cette modification se traduisant par une inhibition.

Ferguson (1948) (5), Stewart (1949) (17) ont prouvé que le trèfle ainsi que la luzerne contenaient une substance qui inhibait l'activité de l'intestin de lapin *in vitro*.

Parsons (1955) (11) et ses collaborateurs étudiant les fourrages qui déterminent la météorisation chez les ruminants, signalent que les effets sur le jéjunum isolé de lapin sont très variables mais que la réaction généralement observée, est une inhibition de la motricité.

Chez le lapin à fistule permanente du cæcum, l'administration par voie veineuse d'extrait de farine de luzerne à 10 % et ultre-filtré, à la dose de 2,5 ml par kg, stimule la motricité de ce réservoir. Le nombre des contractions passe de deux à trois pour quatre minutes (2).

3° Sur le duodénum isolé du chien, l'extrait de farine de luzerne provoque une réaction motrice caractérisée essentiellement par une augmentation de l'amplitude des contractions.

In vivo chez le chien anesthésié au chloralose, l'extrait de farine de luzerne déprotéiné ou ultra-filtré, injecté par voie veineuse, entraîne une stimulation de la motricité intestinale, à la dose minimum de 1 ml/kg. Cette augmentation de la motricité légère et de courte durée à cette dose, devient plus nette pour une dose double. Nous notons également, avec cette dernière dose, une hypertension suivie d'hypotension et une très légère diminution de la sécrétion biliaire (1).

4° Le duodénum isolé de porc et de rat se comporte comme le duodénum de lapin (2).

5° Sur l'iléon isolé de cobaye, toutes les préparations de luzerne, de même que l'extrait de pulpes fraîches de betteraves, ont provoqué une contraction de cet organe (2).

6° Sur le duodénum d'agneau, on observe une réaction double à la dose de 4 ml d'extrait de farine de luzerne déprotéinée : brève inhibition de la motricité avec chute du tonus musculaire de base suivie d'une augmentation de l'amplitude des contractions automatiques (2).

7° Sur le mouton non anesthésié, l'administration par voie

veineuse d'un extrait déprotéiné de farine de luzerne à la dose de 0,5 à 1 ml de l'extrait à 10 %, provoque l'arrêt immédiat de la motricité du rumen. Cet arrêt se prolonge pendant plus d'une heure. L'inhibition de la motricité du rumen est accompagnée, après un temps de latence d'environ vingt minutes, d'une diarrhée liquide intense.

De plus, quelques minutes après l'injection, les troubles suivants s'installent : salivation abondante, respiration accélérée et difficile (90 mvts/mn), tremblements. Il faut attendre deux ou trois heures pour que ces troubles commencent à s'atténuer.

Dans une expérience effectuée sur une brebis de 48 kg, l'injection intraveineuse de 50 ml d'extrait ultra-filtré de farine de luzerne fut suivie d'une forte diminution du nombre et de l'amplitude des contractions du rumen. Et si l'inhibition de la motricité de ce réservoir n'était pas totale, elle était accompagnée de météorisation (2).

Chez le mouton anesthésié au chloralose, une quantité équivalente d'extrait (1 ml d'extrait à 10 % par kg de poids vif) injectée par voie veineuse, détermine une violente contraction du cæcum.

Ces résultats sont comparables à ceux obtenus chez le mouton non anesthésié après administration directement dans le rumen, soit de farine soit d'extrait de farine de luzerne.

Dans les deux cas, on note une inhibition de la motricité du rumen qui est plus marquée avec la farine de luzerne, celle-ci demeurant plus longtemps dans les réservoirs.

Il est à remarquer que le même essai réalisé avec des pulpes de betteraves, conduit au contraire à une hypermotricité du rumen (1).

Parsons et ses coll. (11) étudiant un extrait de trèfle (Ladino Clover) constatent, nous l'avons vu, qu'il provoque une inhibition nette de la motricité de l'intestin isolé de lapin. Ils en font alors absorber 1.815 g environ à une brebis adulte. Elle météorise rapidement et meurt en onze minutes.

D'après ces auteurs, un extrait de ce trèfle introduit directement dans le réseau et le sac antérieur du rumen de la vache, inhibe l'éructation mais ne modifie par les contractions du rumen.

Evans et Evans (3), (4) montrent qu'un litre de jus de trèfle (équivalant environ à 2.300 g de trèfle frais) introduit dans le rumen du mouton, paralyse ses mouvements immédiatement.

Cette inhibition est accompagnée des symptômes généraux qui signent les intoxications aigües : dyspnée, mydriase, ...

Finalement, le mouton succombe dans une crise de convulsions tétaniques, deux heures après l'administration du jus.

La question se pose de savoir quelle est la nature du ou des principes actifs. Le passage à travers l'ultra-filtre d'Ambard indique qu'il s'agit de substances d'un poids moléculaire inférieur à 3.000.

Sur l'iléon isolé de cobaye, l'extrait se comporte comme l'histamine. Sur les divers iléons étudiés, la variation de sensibilité à l'histamine et à l'extrait sont parallèles. D'autre part, la contraction est inhibée par le phénergan; elle ne l'est pas par l'atropine.

Mais les autres réactions obtenues : inhibition de la motricité du duodénum de lapin et de rat, hypertension chez le chien, ne peuvent être comparées à une action histaminique. Sur le duodénum isolé de cheval, la contraction obtenue n'est pas modifiée par un adrénolytique : le 933 F (Pipéridino-méthyl-3-benzo-dioxane).
D'après Ferguson et coll. (1949, 1950) la substance responsable de l'effet inhibiteur de la luzerne sur l'intestin isolé de lapin serait un dérivé flavonique : la 5'7'4' trihydroxy 3'5' dimethoxyflavone (1).

Chapitre II

TRAVAUX PERSONNELS

Ce chapitre comprendra trois parties.

Dans une première partie, les techniques d'expérimentation seront exposées.

Dans une seconde partie, une étude sommaire renseignera sur les caractéristiques des luzernes employées.

Une troisième partie sera consacrée à l'exposé des expériences.

I - TECHNIQUES

Plusieurs luzernes furent testées et nous avons utilisé, soit l'extrait de végétal frais, soit l'extrait aqueux préparé à partir de la farine de luzerne.

Les expériences furent effectuées d'abord *in vitro* sur organe isolé, par enregistrement graphique des contractions du duodénum de cheval et de lapin, du cæcum de poule, de gros colon de rat.

Puis une série d'expériences *in vivo* fut consacrée à l'étude de la variation de la sécrétion biliaire du cobaye et à l'étude de la motricité intestinale des petits ruminants.

Dans ce dernier cas, l'extrait à tester est injecté, soit par voie endoveineuse, soit directement dans le duodénum.

I. — PRÉPARATION DES EXTRAITS

1° *Les poudres :*

Les premiers essais ont été réalisés avec la luzerne fraîche mise à déshydrater aussitôt après la coupe à l'air libre, sous une lampe à infrarouge chauffant cette luzerne à 35°. Après quarante-huit heures environ, la luzerne est finement broyée et réduite en poudre.

Pour les essais ultérieurs, des raisons techniques nous l'imposant, la luzerne, aussitôt après la récolte, est mise à sécher à l'ombre pendant quarante-huit heures, puis est coupée en morceaux et mise

à l'étuve à 32 °C pendant trente-six heures environ. Ensuite, elle est réduite en farine très fine.

2° *Les extraits aqueux.*

Ils titrent soit 2 %, soit 10 %. Ce second dosage est plus pratique car il permet l'utilisation d'une petite quantité d'extrait, ce qui évite dans la cuve à organe isolé (100 ml) des erreurs de concentration.

La poudre est ajoutée soit à l'eau distillée pure, soit à une solution de Tyrode non glucosé. Le mélange, après une agitation de quatre heures environ est mis en glacière pendant douze heures. Il est soumis à une nouvelle agitation d'une heure et enfin filtré avec ou sans centrifugation préalable.

Quand, pour les besoins de l'expérimentation, un extrait déprotéiné était préférable, il était obtenu par chauffage à 50 °C pendant une minute, puis filtré sur papier filtre.

3° *Les extraits frais*

La luzerne (feuilles et tiges) est coupée en morceaux de 1 cm de long environ, puis mise à macérer dans l'eau distillée pendant vingt-quatre heures (30 g de luzerne pour 200 ml d'eau distillée).

Après cela tout le liquide est exprimé. Au résidu solide, est ajouté à nouveau de l'eau distillée (100 ml d'eau distillée pour les 30 g initiaux). Le tout étant remis à macérer vingt-quatre heures.

Après ce temps, tout l'extrait aqueux est obtenu en exprimant fortement la macération.

Les deux extraits obtenus à vingt-quatre heures d'intervalle sont mélangés puis filtrés sur papier filtre et stockés en glacière jusqu'à utilisation.

II. — MATÉRIEL

a) In vitro

La technique classique avec la cuve à organe isolé en bain de Tyrode a été utilisée. Nous n'en rappellerons que les grandes lignes :

Lapin

Aussitôt après sacrification, il est prélevé 2 à 3 cm de duodénum. Après avoir enlevé la graisse, l'organe est monté et déposé dans la cuve contenant la solution de Tyrode. La motricité s'observe en reliant à un levier inscripteur, l'anse duodénale immergée dans le liquide de Tyrode oxygéné à 38 °C.

Poule

Ici, après la sacrification, un cæcum est prélevé le plus rapi-

dement possible. Il est monté après avoir été nettoyé à l'aide d'une solution de Tyrode, de ses excréments. Le montage s'effectue comme pour le duodénum de lapin.

Rat

La technique est la même que chez le lapin à la différence près, qu'ici, c'est un morceau de gros colon qui est prélevé.

Cheval

Pour cette espèce, les duodénums sont prélevés à l'abattoir le plus rapidement possible après l'abattage de l'animal. Ils sont lavés à l'aide d'une solution de Tyrode.

Dans un second temps, ils sont déposés progressivement dans la même solution mais à 0 °C pour le transport. Au moment de l'emploi l'organe est réchauffé petit à petit.

Pour l'enregistrement, les dimensions de la cuve (100 ml) ne nous permettant pas d'introduire le duodénum entier, nous fûmes obligé de n'utiliser que des lamelles de duodénum, d'une longueur d'environ 3 à 4 cm et de 1 cm de largeur. De ce fait, les contractions enregistrées sont celles des fibres longitudinales, seulement.

Tous les organes furent utilisés dans une cuve de 100 ml maintenue à 38 °C. A chaque expérience, les organes furent testés à l'acétyl-choline afin d'obtenir une contraction de référence.

b) In vivo

Deux techniques furent utilisées.

a) *Sécrétion biliaire du cobaye.*

Le cobaye est anesthésié à l'uréthane à raison de 1 g par kg administré en intrapéritonéale sous forme d'une solution à 10 %.

L'animal est fixé sur le dos, la face ventrale est rasée, une incision de 5 cm de long est pratiquée sur la ligne blanche et une seconde incision est faite sur le flanc droit le long de l'hypochondre. Le foie est maintenu soulevé. Une ligature du canal cholédoque est placée le plus en aval possible.

En amont de cette ligature, est mise en place une sonde reliée à un petit tube par où la bile s'écoulera goutte à goutte.

Une ligature est mise sur le duodénum pour arrêter le transit. En aval, une canule est placée pour l'introduction des extraits à tester. Cette canule est maintenue solidaire du duodénum grâce à une ligature en bourse. Les bords de l'incision de la paroi ventrale sont maintenus rapprochés par deux pinces.

b) *Enregistrement de la motricité intestinale des petits ruminants.*

Les animaux sont soumis à une anesthésie générale à l'aide d'une solution de chloralose à 10 % à raison de 5 ml environ par kg (la dose variant d'ailleurs avec les animaux).

Une trachéotomie est pratiquée pour éviter les fausses déglutitions.

L'enregistrement de la motricité intestinale (cæcum et duodénum) est réalisé gârce à une ampoule exploratrice du caoutchouc mince introduite dans l'organe à étudier. Elle est reliée à une capsule de Marey par la méthode du sphygmoscope consistant à installer sur le tube reliant le ballon explorateur à la capsule de Marey, un ballon de caoutchouc enfermé dans une enceinte close de telle sorte que la sensibilité de la capsule de Marey soit maximum (en évitant qu'elle soit en surpression).

L'enregistrement de la sécrétion biliaire est fait par une canule mise en place dans le cholédoque après ligature de ce canal en aval de la canule. Cette dernière est reliée à un tuyau qui permettra l'écoulement de la bile.

Une canule est placée en aval d'une ligature posée sur le duodénum pour l'introduction des extraits à tester.

L'enregistrement de la pression artérielle est obtenu par le manomètre à mercure relié à une canule placée dans la carotide droite.

II - LUZERNES UTILISÉES (1)

Deux séries d'expériences furent effectuées :

— dans un premier temps avec des extraits obtenus à partir d'une même luzerne récoltée à des époques différentes,

— dans un second temps avec des luzernes d'âges différents, récoltées à la même époque.

Quand ce fut possible, l'action des farines fut comparée à celle du végétal frais.

Première série d'expériences avec cinq lots de luzerne A1, R 1, R 2, R 3, M dont voici les caractéristiques :

A 1 prélevée le 19 février 1961.		
Poids frais	500 g	
Poids après séchage infrarouge	118 g	
Humidité	14,5 %	
Humidité totale	80 %	
Matière sèche	20 %	
L'ANALYSE RÉVÈLE :	Sur échantillon	Sur matière sèche
Humidité	14,5 %	0
Protéine brute (N × 6,25)	31,6 %	36,9 %
Cellulose	12,7 %	14,8 %
Cendres	7,65 %	9 %
R 1 récoltée le 25 février 1961.		
Protéine brute	29 %	
Cellulose	14,2 %	
Matière sèche	22 %	
R 2 récoltée le 19 mars 1961.		
Protéine brute	28 %	
Cellulose	16,4 %	
Matière sèche	30,7 %	
R 3 récoltée le 1er mai 1961.		
Protéine brute	22,3 %	
Cellulose	21,4 %	
Matière sèche	23,5 %	

M

Mélange de farine d'origine inconnue provenant d'une farine industrielle.

(1) Nous tenons ici à remercier Monsieur le Professeur Faliu qui nous a fourni certains des échantillons de farine de luzerne et qui en a effectué les analyses.

Deuxième série d'expériences avec deux lots de luzerne de 1 an et 4 ans :

R 1 - luzerne de 1 ans prélevée le 7 mai 1962 une semaine avant la première coupe, hauteur 40 cm environ;

R 4 - luzerne de 4 ans prélevée le même jour, hauteur 45 cm environ.

De ces échantillons, un extrait aqueux frais est préparé d'une part, et une farine selon le procédé décrit au chapitre précédent, d'autre part.

Il nous a été permis de faire quelques essais avec un extrait de feuilles de chou-fleur dont la composition est la suivante :

Résultats d'analyse		*Technique utilisée*
Humidité	17 %	Dessication sous vide à la température ambiante à 20 °C.
Protéine brute (N × 6,25) ...	24,6 %	Kjeldalh N = 3,93 %.
Cellulose brute	14,5 %	Méthode de Scharrer,
Matière grasse	2,6 %	Simple extraction à l'éther
Extractif non azoté	31,4 %	Par différence.
Cendre	9,9 %	Incinération à 550 °C environ.
Phosphore	0,56 %	Précipitation sous forme de phosphomolybdate d'NH4 et pesée du précipité.

Remarque : La teneur en matières azotées évolue très vite au cours du premier cycle de végétation, l'azote étant dilué par les glucides membranaires qui se forment en abondance au cours de l'allongement des tiges. Les teneurs en éléments membranaires et en matières azotées sont en effet inversement proportionnelles puisque ces dernières constituent un élément important du protoplasme localisé dans les cellules vivantes des parenchymes chlorophylliens (7).

Tandis que le végétal, au début de sa période de croissance est pauvre en matière sèche, les proportions relatives des matériaux nutritifs et de l'eau se modifient dans le sens d'une concentration en substances organiques et minérales, à mesure que les végétaux se rapprochent de leur montée en graine. Ces phénomènes s'accompagnent ordinairement de changements importants dans les structures des matières azotées, des matières ternaires non grasses et des matières grasses. Pendant que dans la fraction azotée, les matières protéiques tendent à s'accroître au détriment des acides aminés libres et des amides, les matériaux non azotés subissent des transformations complexes (9).

Enfin, il faut remarquer que les feuilles riches en constituants protoplasmiques (matières azotées, composés phosphorés, magnésium, calcium) ont des teneurs plus élevées que les autres organes

en éléments minéraux, en particulier en phosphore, calcium, magnésium. Cet écart s'accroît au cours du développement de la plante.

En règle générale, les variations de la composition minérale de la plante entière sont étroitement liées à l'évolution du rapport feuilles/tiges.

Alors que toutes les plantes s'appauvrissent en éléments minéraux en vieillissant, les luzernes gardent une teneur relativement constante en calcium et s'enrichissent faiblement en sodium (6).

L'influence du stade de développement sur les teneurs en matières azotées, calcium, magnésium, est très nette. Quel que soit le cycle de végétation, celles-ci diminuent régulièrement avec l'âge de la plante. En revanche pour le phosphore et le potassium, seules les plantes du premier cycle s'appauvrissent considérablement; la composition des plantes des cycles suivants étant peu modifiés par le stade de développement (7).

En résumé, les analyses montrent qu'au cours de sa végétation, la luzerne change de composition. Tandis que la teneur en protéine décroît jusqu'à la floraison, la matière sèche et surtout la cellulose croît en pourcentage.

III - EXPÉRIMENTATION

Afin de classer ces résultats, nous les envisagerons selon le plan suivant :

Étude *in vitro* du duodénum de lapin, du duodénum de cheval, du gros colon de rat, de cæcum de poule.

Étude *in vivo* de la motricité intestinale des petits ruminants.

Étude de la sécrétion biliaire chez les petits ruminants et chez le cobaye.

a) In vitro

1° Duodénum de lapin.

Comme nous l'avons vu au premier chapitre, la motricité intestinale du lapin *in vitro* est inhibée par les extraits de luzerne.

Les quatre farines A 1, R 1, R 2, R 3 furent testées à l'aide d'un extrait à 2 % (2 g de farine dans 100 ml de Tyrode non glucosé).

R 1 n'entraîne aucune variation de tracé même à forte dose.

R 3 son action est très peu marquée.

R 2 agit nettement. Elle diminue l'ampleur des contractions et le tonus musculaire de base. La dose active est de 10 ml ce qui représente 0,2 g de farine, soit environ 1 g de végétal frais (fig. 1).

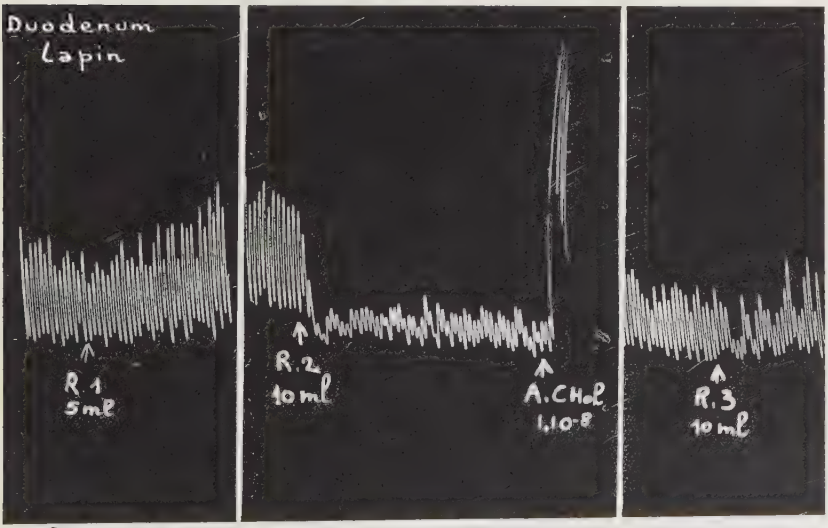


Fig. 1.

Duodénum isolé de lapin.
Action de trois extraits de farine de luzerne à 2 %.

A 1 agit également mais son action, si elle est aussi durable que R 2, est moins intense. Par contre, la dose active est plus faible (5 ml) ce qui ne représente que 0,5 g de végétal frais environ.

Cependant si la dose est double, l'effet est le même, donc le seuil d'action seul, est plus faible pour cette luzerne A 1 (fig. 2).

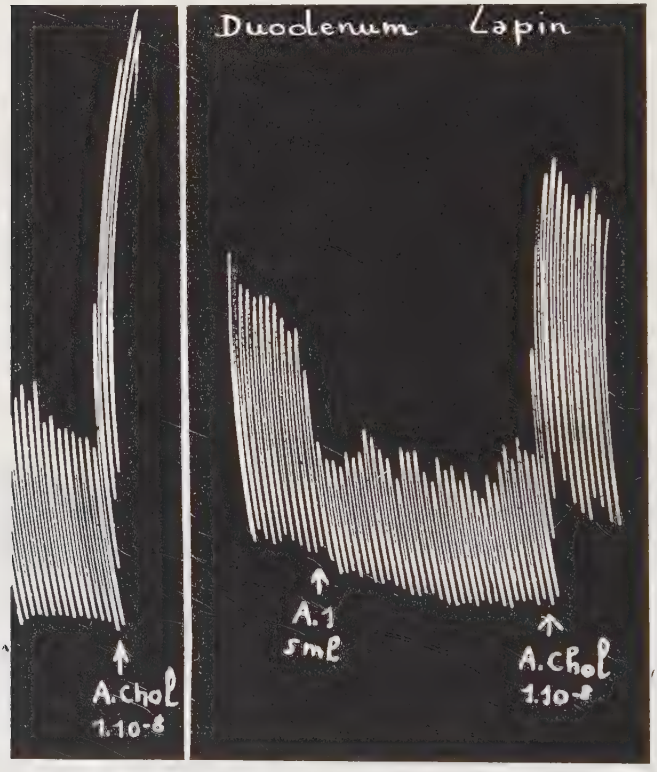


Fig. 2.

Duodénum isolé de lapin.

Action de l'acétyl-choline sur un duodénum soumis à l'effet de 5 ml d'extrait de luzerne à 2 %.

Ces extraits ne désensibilisent pas le duodénum de lapin à l'action de l'acétyl-choline, mais la contraction obtenue aux mêmes concentrations d'acétyl-choline est plus faible après l'action de la luzerne qu'avant.

Avec la luzerne de 4 ans, il y a un arrêt total des contractions

et une nette diminution du tonus musculaire de base, mais à une dose plus élevée : 15 ml d'extrait à 2 %. Les premières contractions ne reprennent qu'après quatre minutes (fig. 3) donc, on ne peut

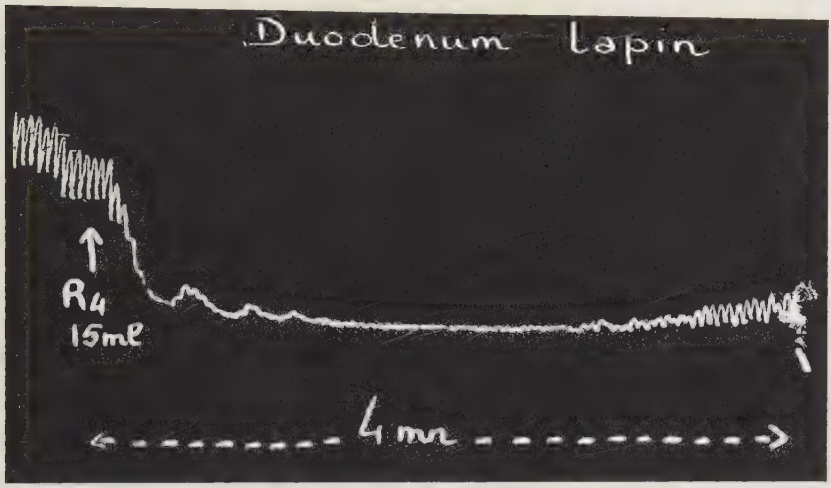


Fig. 3.

Duodénum isolé de lapin.
Action de 15 ml d'extrait à 2 % de farine de luzerne de 4 ans.

conclure que chez le lapin, l'action des luzernes sur la motricité duodénale, soit en rapport avec l'âge du végétal. Il n'y a aucun lien entre les actions des farines testées. Il faut peut-être rechercher une explication dans les teneurs en protéine : c'est la luzerne la plus riche : 28 % de protéine qui agit le plus nettement sur le duodénum de lapin.

2° Duodénum isolé de cheval.

Cette espèce est très sensible à l'action de la luzerne.

Avec le premier lot de luzerne, la réponse est indépendante de l'âge de la luzerne. Ainsi, avec l'extrait R 1 (récolté le 25 février 1961) à 10 %, il se produit une forte contraction immédiate, à la dose de 5 ml.

Avec l'extrait préparé à partir de la farine de mélange M le temps de latence, à dose égale, est plus long. Les contractions engendrées sont aussi grandes mais le tonus musculaire de base n'est pas augmenté, contrairement à ce qui se produit avec la luzerne R 1.

Quand la dose diminue, la contraction se produit, mais avec un temps de latence plus ou moins long (3 à 6 contractions).

Le seuil d'action est en moyenne de 1 ml d'extrait à 10 % soit 0,1 g de farine, ce qui représente 0,5 g de végétal frais (fig. 4).

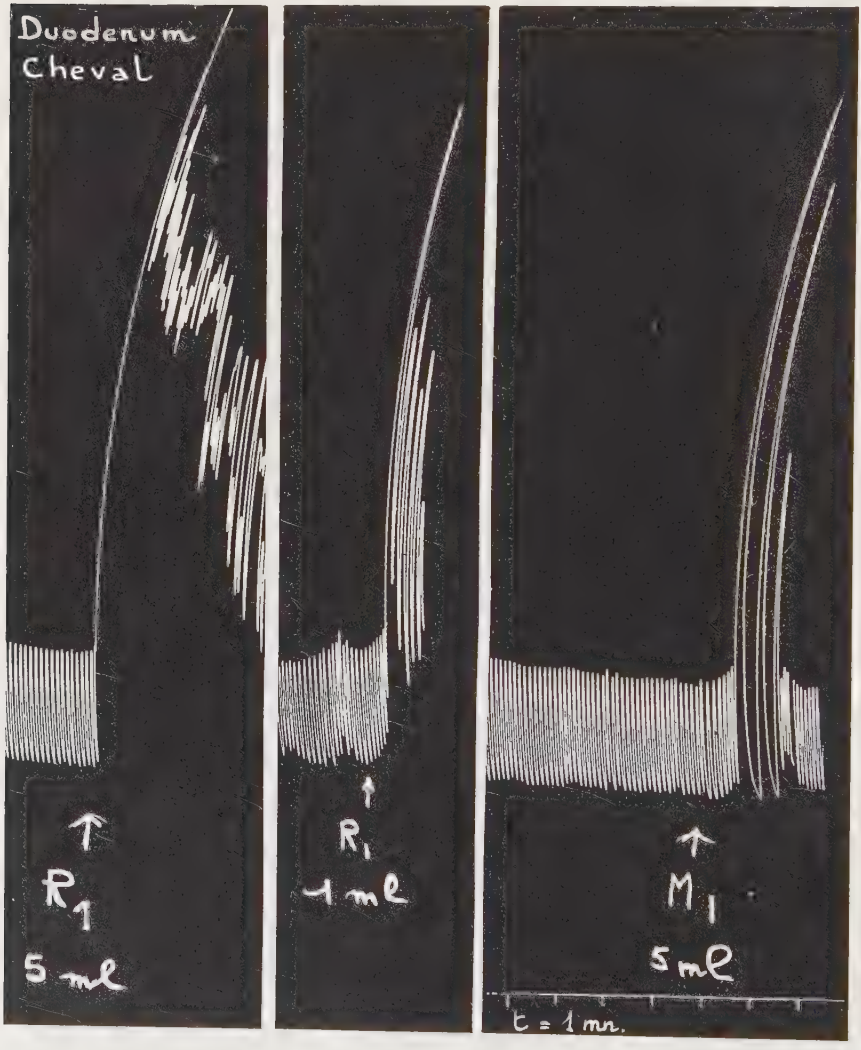


Fig. 4.

Duodénum isolé de cheval.
Action des extraits à 2 % des farines de luzerne.
Recherche du seuil d'action de la luzerne R 1.

Ici, comme chez le lapin, on ne peut conclure à un rapport direct entre l'action de la luzerne et l'époque de sa végétation.

Testage avec les deux extraits de luzerne de 1 an et 4 ans (R 1 et R 4)

Ces deux extraits entraînent à la dose égale (5 ml d'extrait à 10 %) une forte contraction. La luzerne de 4 ans agit mieux; la contraction est plus ample et le tonus musculaire de base est plus fort qu'avec l'extrait de luzerne de 1 an. La contraction obtenue égale celle causée par l'acétyl-choline à la concentration de $1\text{-}10^{-8}$

Nous avons effectué quelques essais avec un extrait de feuilles de chou-fleur préparé dans les mêmes conditions que l'extrait de luzerne. Le tracé obtenu est superposable à celui obtenu avec la luzerne de 4 ans, il se caractérise également par une très forte contraction des fibres longitudinales du duodénum.

La luzerne de 1 an augmente légèrement le tonus musculaire de base en changeant peu l'amplitude des contractions. Par contre, la luzerne de 4 ans et le chou provoquent une véritable tétanisation du muscle duodénal. Le tonus musculaire de base est très fortement augmenté (fig. 5).

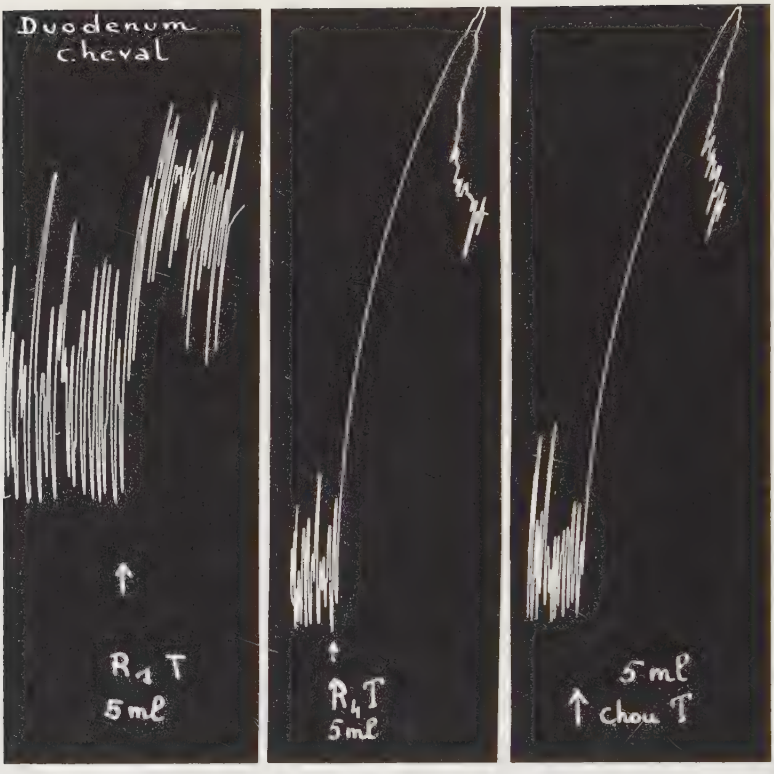


Fig. 5.

Duodénum isolé de cheval.

Action comparée de 5ml d'extraits à 10 % de farine de luzerne, de 1 an, de 4 ans et de farine de feuilles de chou-fleur.

Pendant une ou deux minutes, les contractions sont nulles.

Les résultats obtenus sont les mêmes, que l'extrait soit préparé avec du Tyrode non glucosé ou avec de l'eau distillée.

Ces deux luzernes, ainsi d'ailleurs que le chou, agissent à faible dose. La dose minimum entraînant une contraction notable est de 0,5 ml d'extrait à 10 %, soit 0,05 g de farine, représentant environ 0,20 g de végétal frais.

L'action des extraits aqueux de farine a été comparé à celle des extraits faits à partir du végétal frais.

Pour qu'il y ait équivalence en poids de produit actif, il faut que la dose d'extrait de végétal frais soit le double de celle d'extrait

de farine. Dans les deux cas (luzerne de 1 an et de 4 ans) les courbes sont superposables. Le seuil d'action est également le même (fig. 6).

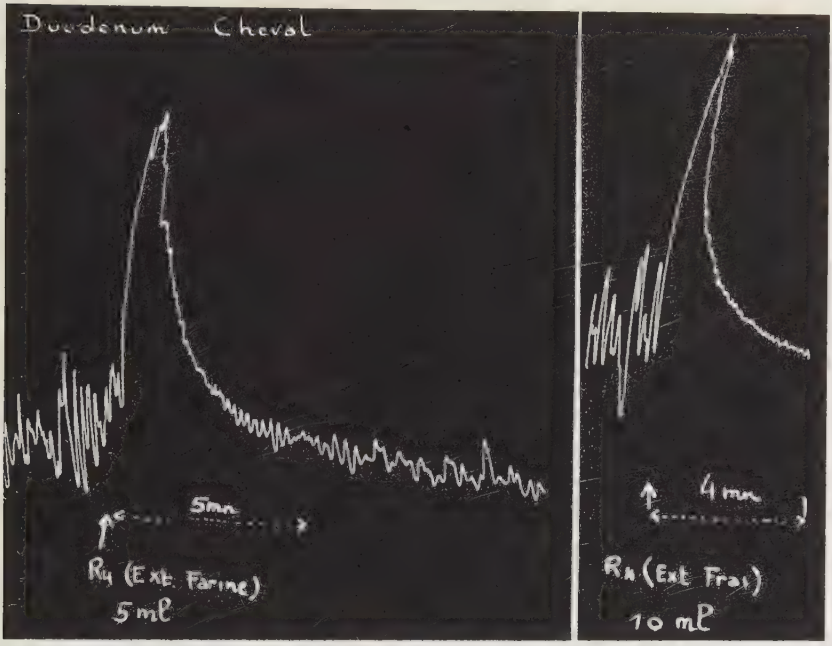


FIG. 6.

Duodénum isolé de cheval.
Action comparée des extraits de farine de luzerne à 10 % et des extraits frais à 20 % de la même luzerne.

Cette expérience prouve que le mode de préparation de la farine, en ne dépassant pas 35 °C de chauffage, ne dénature aucun des principes actifs de la luzerne. Il est donc possible d'attribuer au végétal frais les résultats enregistrés à partir de la farine de luzerne.

En résumé, chez cette espèce, comme chez le lapin, l'influence de l'époque de la végétation du végétal sur ses propriétés contracturantes vis-à-vis du duodénum isolé de cheval, n'est pas prouvée.

Par contre, l'année de la luzerne semble intervenir de façon plus probante : celle de 4 ans est plus contracturante que celle de 1 an.

A ce sujet, on remarque que le mode de préparation de l'extrait n'intervient pas.

3° Gros colon de rat.

Les extraits de luzerne à la dose relativement forte de 10 ml

(représentant 0,5 g de végétal frais) entraînent une très légère augmentation de l'amplitude des contractions.

Du point de vue qualitatif, la réponse est indépendante de l'âge de la luzerne utilisée.

Le chou, par contre, semble légèrement plus actif à la dose de 5 ml d'extrait à 10 %, il engendre une augmentation du tonus musculaire de base. Cette contraction est légèrement plus faible que celle obtenue avec l'acétyl-choline à la concentration de 1-10^{-8} (fig. 7).

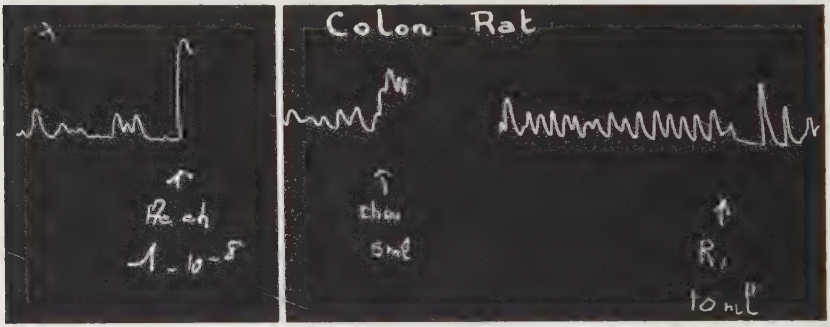


Fig. 7.

Colon isolé de rat.
Action de 5 ml d'extrait à 10 % de farine de chou-fleur
et action de 10 ml d'extrait à 10 % de farine de luzerne de 1 an.

4° Caecum de poule.

Cet organe est très sensible aux extraits de luzerne.

A la dose de 1 ml d'extrait à 10 % il y a une forte contraction, durable, avec une grande augmentation du tonus musculaire de base. Cette contraction est légèrement plus forte que celle produite par l'acétyl-choline à 1-10^{-9}.

La luzerne de 1 an est moins active que celle de 4 ans. Les contractions sont dans le rapport de 4/5. Quant au chou, il a la même action que la luzerne de 4 ans. La contraction obtenue est supérieure à celle engendrée par l'acétyl-choline à 1-10^{-9}.

Le seuil d'action de ces extraits a été recherché. En moyenne, il s'établit à la dose de 1/10 ml d'extrait à 10 % représentant 0,05 g de végétal frais (fig. 8).

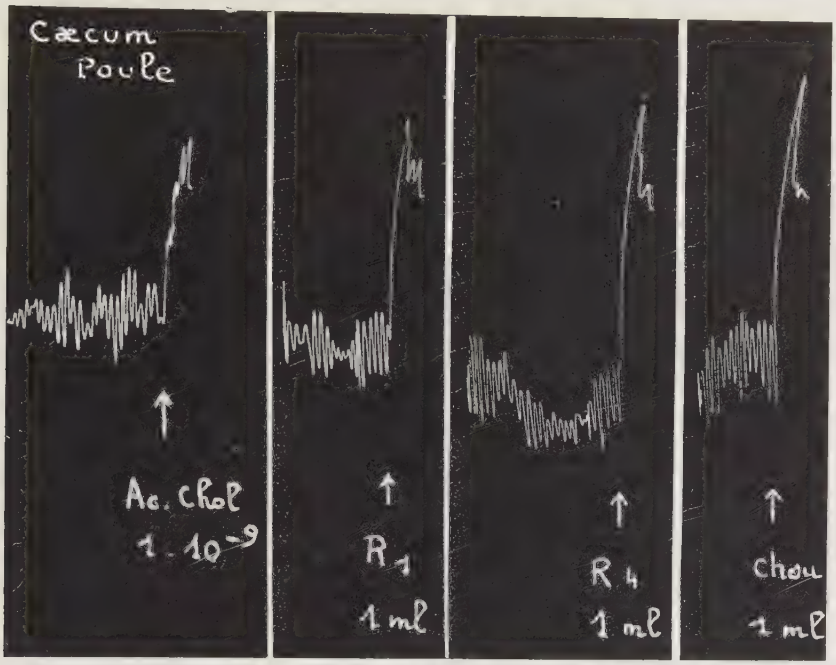


Fig. 8.

Cæcum isolé de poule.
Action comparée de 1 ml d'extrait à 10 % de farine de luzerne de 1 an et 4 ans et de farine de feuilles de chou-fleur.

Ceci prouve la grande sensibilité du cæcum de poule.

b) In vivo

1° Motricité intestinale des petits ruminants.

Dans le premier chapitre, nous avons vu les propriétés inhibitrices que possèdent les extraits de luzerne vis-à-vis de la motricité du rumen. Ce fait est acquis. Les expériences faites ici, le furent sur la motricité intestinale, principalement celle du cæcum, parfois du jéjunum.

Avant toute injection, nous enregistrons la motricité normale

pendant quarante minutes environ (ce que nous appellerons le temps de base).

Les contractions enregistrées pendant ce temps serviront de référence (fig. 9).

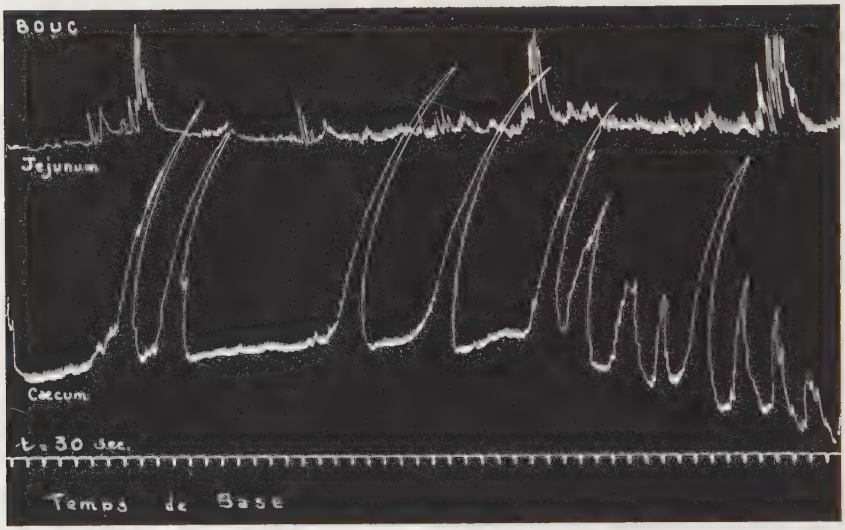


Fig. 9.

Enregistrement des contractions du jéjunum et du cæcum de bouc anesthésié au chloralose, avant l'administration des extraits.

Les deux luzernes, celles de 1 an et de 4 ans furent testées.

a) *Luzerne de 1 an.*

Expérience n° 1 - Bouc de 73 kg

A la dose de 10 ml d'extrait à 10 % injectés dans le duodénum les graphiques montrent un ralentissement des contractions cæcales et jéjunales (fig. 10).

Ce ralentissement est très net une heure après l'injection (fig. 11).

Il y a d'une part, diminution de l'amplitude des contractions et d'autre part, du nombre des contractions.

12 salves de contractions pendant la première demi-heure,

6 salves, dans l'heure et demie suivante.

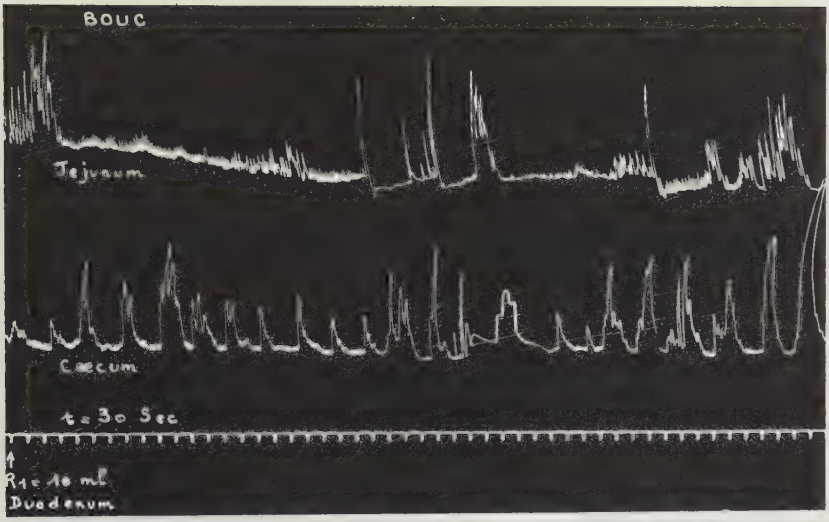


FIG. 10.

Enregistrement des contractions du jéjunum et du cæcum
de bouc anesthésié au chloralose
aussitôt après l'administration dans le duodénum
de 10 ml d'extrait à 10 % de farine de luzerne de 1 an.

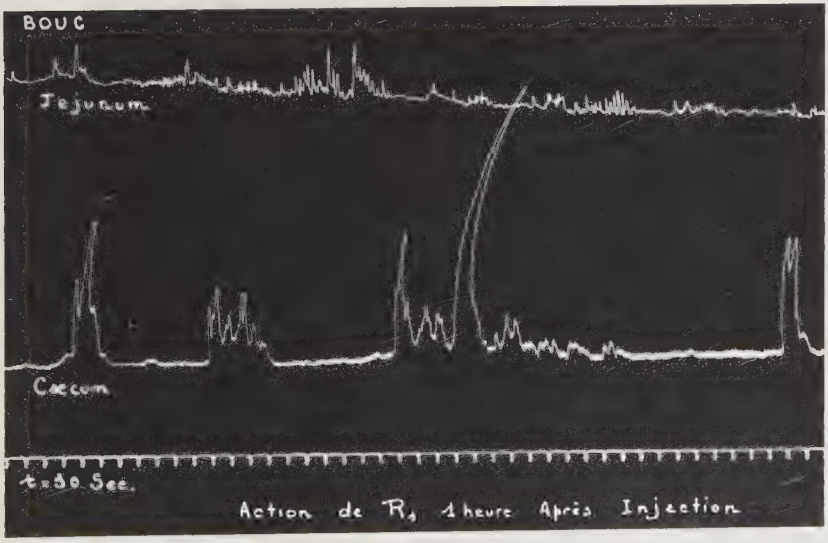


FIG. 11.

une heure après l'administration dans le duodénum

Expérience n° 2 - Brebis de 40 kg

Le graphique de base indique un nombre plus restreint de contractions cæcales, par rapport au bouc (fig. 12).

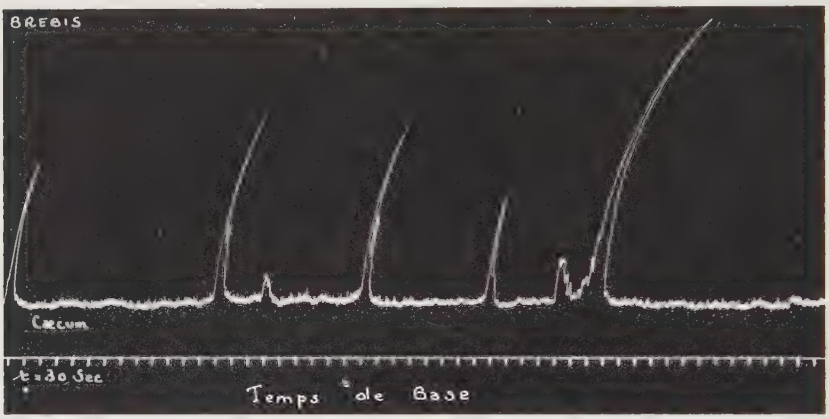


Fig. 12.

Enregistrement des contractions du cæcum de brebis anesthésiée au chloralose, avant l'administration des extraits.

Une heure après l'administration d'une dose plus forte que chez le bouc (30 ml du même extrait), la réduction du nombre des contractions est alors considérable : quatre fois moins (fig. 13).

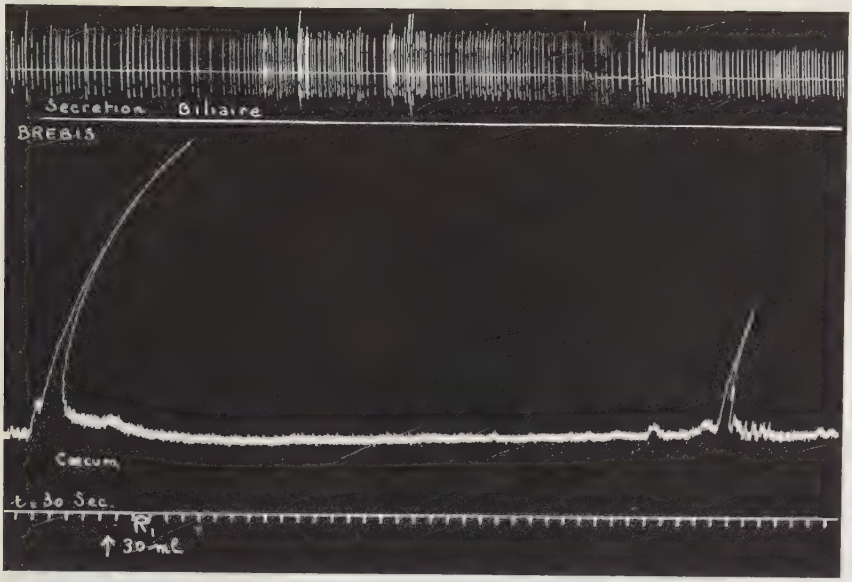


Fig. 13.

Enregistrement des contractions du cæcum
et de la sécrétion biliaire de brebis anesthésiée au chloralose
après l'administration dans le duodénum de 30 ml d'extrait à 10 %
de farine de luzerne de 1 an.

b) *Luzerne de 4 ans.*

Expérience n° 1 - Bouc de 73 kg

A la dose de 10 ou 20 ml d'extrait à 10 %, cette luzerne agit dans le même sens que la luzerne de 1 an et la diminution du nombre des salves est du même ordre (fig. 14).

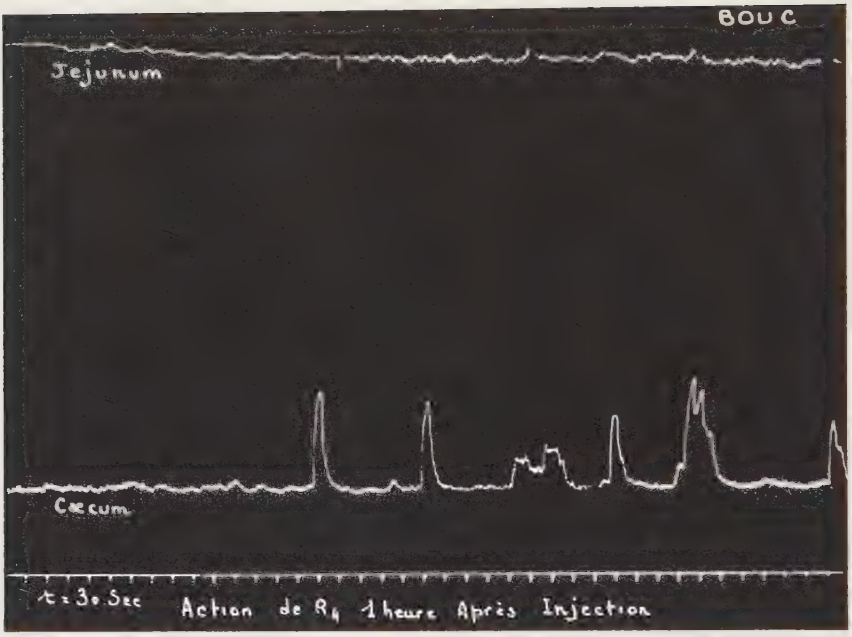


Fig. 14.

Enregistrement des contractions du jéjunum et du cæcum de bouc anesthésié au chloralose, une heure après l'administration dans le duodénum de 10 ml d'extrait à 10 % de farine de luzerne de 4 ans.

Par contre, l'action sur le jéjunum est beaucoup plus nette qu'avec la luzerne de 1 an. Une heure après l'injection, les contractions deviennent nulles.

Expérience n° 2 - Brebis de 40 kg

La dose utilisée ici est de 30 ml d'extrait à 10 % et l'action est très nette puisqu'il y a arrêt total des contractions cæcales. (Un ennui technique a faussé l'enregistrement des contractions du jéjunum.)

En conclusion : le temps de référence montrait de grandes contractions rapprochées, tant sur le jéjunum que sur le cæcum.

Dès l'administration des extraits de luzerne dans le duodénum, les contractions furent plus rares et aussi d'amplitude restreinte.

La luzerne de 4 ans apparaît plus efficace sur le ralentissement des contractions intestinales :

Sur le cæcum de bouc par exemple, pendant deux heures d'action des extraits, les résultats comparés sont les suivants :

R 1..... 52 grandes contractions
R 4..... 34 petites contractions

Sur le jéjunum, la diminution est du même ordre :

R 1..... 19 salves de contractions
R 4..... 5 salves de contractions

Pendant le temps de motricité normale, nous pouvons compter en moyenne, une forte contraction toutes les deux minutes, par la suite, la modification est profonde.

Dans la demi-heure qui suit l'administration de l'extrait, les contractions sont plus nombreuses (une par minute en moyenne) mais leur amplitude est beaucoup plus faible (quatre fois moins grande en moyenne).

Par contre, une heure après l'administration de l'extrait les contractions sont toujours aussi faibles, mais leur fréquence diminue. Nous ne comptons plus qu'une contraction toutes les cinq minutes.

Dans la seconde expérience, l'écart est encore plus grand, puisque, deux heures après la première injection, il faut attendre trente minute entre deux contractions.

Dans les conditions de ces expériences, la brebis paraît donc plus sensible que le bouc à l'action de ces extraits.

Remarque : La pression artérielle passe de 11 à 9 en fin d'expérience qui a duré quatre heures.

Nous ne pouvons affirmer que cette diminution ne soit due qu'à ces extraits.

MODE D'ACTION PAR VOIE ENDOVEINEUSE

Comme nous l'avons déjà dit, l'administration d'un extrait déprotéiné de farine de luzerne à la dose de 0,5 ml d'extrait à 10 % provoque chez le mouton non anesthésié, l'arrêt immédiat de la motricité du rumen.

Chez le bouc anesthésié au chloralose, l'injection endoveineuse de 4 ml d'extrait à 10 % non déprotéiné, entraîne immédiatement une mise en tension du cæcum, suivie dans les trente secondes d'une contraction forte. Le même processus se retrouve avec le jéjunum.

La pression artérielle subit une chute de 2 cm de mercure puis se régularise en deux ou trois minutes.

Immédiatement après l'injection, se produit une chasse biliaire (fig .15).

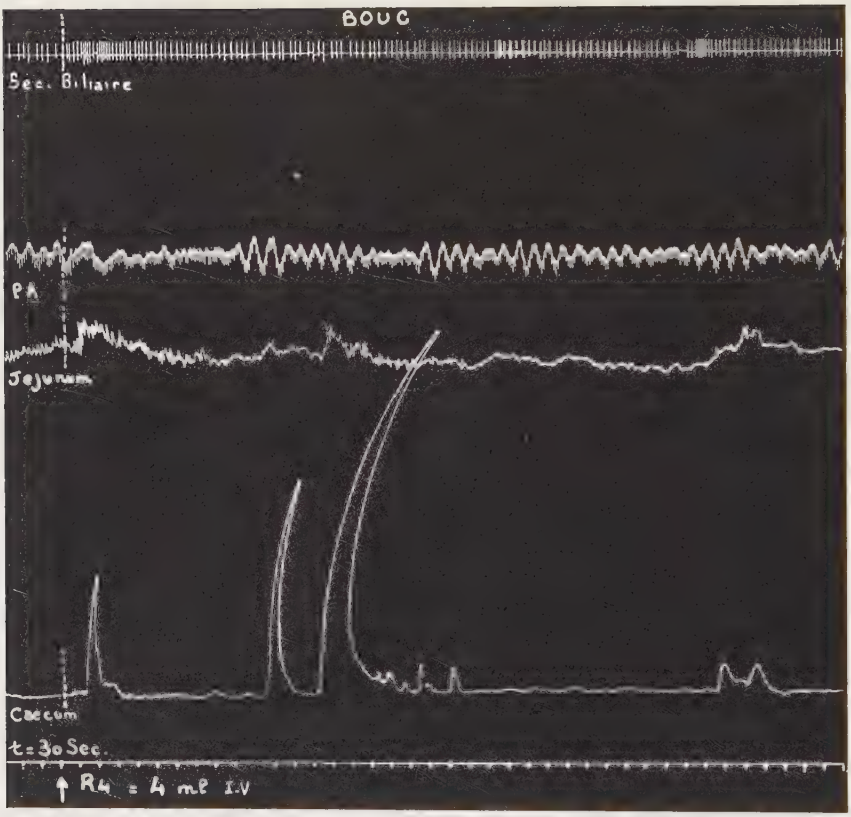


Fig. 15.

Enregistrement des contractions du jéjunum et du cæcum, de la pression artérielle et de la sécrétion biliaire du bouc anesthésié au chloralose, au moment de l'injection endoveineuse de 4 ml d'extrait déprotéiné à 10 % de farine de luzerne de 4 ans.

Les résultats sont identiques à la dose de 2,5 ml d'extrait à 10 %.

Il n'existe pas de différence d'action entre les luzernes de 1 an et les luzernes de 4 ans.

Chez la brebis l'effet est moins net et semble plus probant avec l'extrait déprotéiné.

Il est à remarquer que lors de l'inhibition de la motricité intestinale par injection des extraits dans le duodénum, le fait de réinjecter le chloralose, semble réveiller le péristaltisme.

II. — SÉCRÉTION BILIAIRE

1° Chez les petits ruminants.

L'injection, dans le duodénum, d'extrait de luzerne a des répercussions inconstantes sur la sécrétion biliaire du bouc et de la brebis (quantitativement). Seule, la luzerne de 1 an entraîne une augmentation de la sécrétion biliaire.

L'augmentation débute entre les cinquième et dixième minutes qui suivent l'injection dans le duodénum, et dure environ trente minutes.

Nous avons compté les gouttes par intervalle de cinq minutes.

Dans la première expérience sur le bouc

Sécrétion normale : 23-27-22-27-31-34-35-37 - moyenne 30.

Sécrétion après injection : 43-37-56-41-43-44-46-41 - moyenne 44.

Dans la deuxième expérience sur la brebis

Sécrétion normale : 20-33-44-18-20-25-24-39 - moyenne 28.

Sécrétion après injection : 30-72-46-38-50-42-49-36 - moyenne 45.

Donc, la sécrétion en passant, dans le premier cas, de 30 à 44 gouttes, pour cinq minutes, dans le second cas, de 28 à 45 gouttes, augmente en moyenne de 25 %.

Par contre, la luzerne de 4 ans entraîne une légère diminution de cette sécrétion.

Dans la première expérience, la moyenne passe de 31 gouttes par fraction de cinq minutes, lors de la sécrétion normale, à 27 gouttes après injection dans le duodénum, de la luzerne R 4.

Dans la seconde expérience, la moyenne passe de 21 gouttes lors de la sécrétion normale, à 19 gouttes après injection de l'extrait.

Cette diminution peut, en partie, expliquer que cet extrait soit le plus inhibiteur de la motricité intestinale.

D'autre part, par la voie endoveineuse, les deux extraits testés agissent dans le même sens d'une augmentation de la sécrétion biliaire.

Cette augmentation est la plus nette trois minutes après l'injection de l'extrait.

Les variations quantitatives, selon que l'extrait est déprotéiné ou non, sont faibles. Seule, la répercussion sur la pression artérielle est à noter.

2° Chez le cobaye.

Les différences d'action des luzernes de 1 et de 4 ans se retrouvent chez cette espèce :

Celle de 1 an, augmente la sécrétion biliaire,

Celle de 4 ans, la diminue.

L'expérience suivante le prouve :

Deux cobayes sont préparés en même temps quand leur sécrétion biliaire est comparable (en moyenne 10 gouttes par fraction de dix minutes pendant trente minutes).

Le premier reçoit 1/2 ml de solution à 10 % de l'extrait de luzerne de 1 an, et le deuxième reçoit la même dose de l'extrait de luzerne de 4 ans : la sécrétion biliaire augmente seulement chez le premier.

Tableau n° 2

	Cobaye n° 1	Cobaye n° 2
Sécrétion de référence par fraction de dix minutes	10 gouttes 11 » 10 »	11 gouttes 10 » 10 »
	R 1 = 1/2 ml	*R 4 = 1/2 ml*
Injection dans le duodénum.	12 gouttes 13 » 11 » 12 »	9 gouttes 9 » 9 » 8 »

L'extrait de chou se comporte, à la dose de 1 ml d'extrait à 10 %, comme la luzerne de 1 an.

Les résultats sont identiques si l'on injecte successivement les extraits à un même cobaye, seule la luzerne de 1 an cause une augmentation de la sécrétion biliaire.

Chapitre III

DISCUSSION

1° Résultats.

Du point de vue qualitatif, les résultats obtenus sont en concordance avec ceux déjà publiés, chez le lapin. Ils se caractérisent essentiellement par une inhibition de la motricité duodénale.

D'autre part, nous avons remarqué que chez le cheval, le duodénum montre une grande sensibilité à l'action des extraits de farine de luzerne; l'augmentation des contractions et du tonus musculaire de base est très nette.

Le gros colon de rat réagit par une légère augmentation du tonus musculaire de base.

Chez la poule, le cæcum s'avère très sensible aux extraits de luzerne, mais cette sensibilité ne paraît pas spécifique à la luzerne, car cet organe *in vitro* réagit toujours avec beaucoup de sensibilité (10).

Les petits ruminants, *in vivo*, répondent par une inhibition de la motricité intestinale à l'administration d'extraits de luzerne dans le duodénum. Par contre, l'injection endoveineuse détermine immédiatement une contraction du cæcum et du jéjunum, ainsi qu'une chasse biliaire.

Du point de vue quantitatif, les résultats sont assez décevants. Au départ, le rôle de l'âge paraissait s'imposer. En fait, la relation entre l'âge des luzernes et l'action est inconstante.

Certes, les luzernes d'âges divers agissent souvent différemment, mais sans que l'on puisse déduire un rapport constant entre les causes et les effets. Aussi, aucune règle absolue ne saurait être déduite des constatations qui suivent.

Comme l'a déjà constaté Delafolie (2), lorsque l'on considère une année de végétation (luzerne de 1 an par exemple) le numéro

de la coupe semble peu jouer. En fait, l'activité est surtout fonction de l'époque du prélèvement au cours de la poussée de cette coupe.

En général, l'activité est croissante pendant deux mois de pousse environ. Quand la luzerne vieillit, son activité diminue. Ceci est particulièrement net chez le lapin (fig. 1-2).

A ce moment, la teneur en matière protéique diminue tandis que le pourcentage de cellulose s'élève.

Par contre, si l'on considère la différence d'action des luzernes en fonction de leur âge (luzernes de 1 et 4 ans) les résultats obtenus sont plus probants.

Dans tous les cas, chez toutes les espèces, la luzerne la plus vieille (4 ans) a eu l'action la plus marquée sur la motricité intestinale.

C'est sur organe isolé, maintenu en survie *in vitro*, que les résultats sont les plus nets. Toujours la luzerne la plus âgée s'est montrée la plus active.

Les expériences réalisées sur le vivant, prouvent que si les extraits inhivent la motricité du rumen, il en est de même vis-à-vis de l'intestin. Le ralentissement du péristaltisme du cæcum et du jéjunum est dans ce cas également, plus net avec la luzerne âgée.

Toutefois, administrés par la voie endoveineuse, ces extraits provoquent une forte contraction du cæcum.

Quant à la sécrétion biliaire, les résultats sont différents selon le mode d'administration de l'extrait (chez les polygastriques et chez le cobaye).

Par voie endoveineuse, chez les polygastriques, quel que soit l'âge de la luzerne, elle entraîne une augmentation de la sécrétion biliaire.

Par contre, à la suite de l'administration *in situ* dans le duodénum, aussi bien chez les petits ruminants que chez le cobaye, seule, la luzerne de 1 an, augmente la sécrétion biliaire, alors que la luzerne de 4 ans, la diminue.

Enfin, il est à noter que les résultats sont indépendants du mode de préparation des extraits : que le solvant soit de l'eau distillée ou la solution de Tyrode non glucosé.

De même, ces résultats sont inchangés, que l'on utilise l'extrait de végétal frais ou l'extrait de farine, ce qui prouve que la préparation des farines de luzerne par déshydratation à basse température, respecte le ou les constituants actifs du végétal. La déprotéinisation de l'extrait change peu les résultats enregistrés.

2° Conséquences.

Chez le cheval, nous venons de le voir, les extraits de farine de luzerne ont un effet contracturant sur l'intestin grêle.

Cette sensibilité atypique peut rendre compte de la fréquence des troubles intestinaux observés chez cette espèce.

D'après les travaux de Bretegni, le cheval possède un tonus vagual qui est de loin, le plus élevé. Le cheval présente donc un déséquilibre nerveux physiologique, c'est un parasympathico-tonique.

De plus, chez cette espèce, existe ce que Simonnet - Le Bars appellent le paradoxe de l'adrénaline.

Alors que dans la plupart des espèces, l'adrénaline détermine le relâchement des fibres lisses de l'intestin isolé *in vitro*, ainsi qu'un arrêt du péristaltisme; sur l'intestin isolé de cheval et ceci à tous les niveaux, du pylore au cæcum, l'adrénaline provoque une contraction des fibres lisses suivie d'une hausse permanente du tonus musculaire.

Aux doses élevées ($1\text{-}10^{-6}$), il y a une forte contraction suivie d'une chute secondaire du tonus. Donc l'intestin de cheval réagit par une contraction non seulement aux parasympathomimétiques, mais aux sympathomimétiques; il est donc permis de supposer que dans les coliques, s'il y a déséquilibre du système neurovégétatif, que ce soit dans un sens ou dans l'autre, l'intestin réagit par une contraction (16).

Les extraits de luzerne sont à l'origine d'une forte contraction intestinale c'est-à-dire qu'ils provoquent un spasme. Ce dernier détermine une sensation douloureuse qui, par voie réflexe, entraîne une décharge d'adrénaline de la médullo-surrénale.

Or, nous avons vu que l'adrénaline est elle-même contracturante, on se trouve donc en face d'un véritable « cercle vicieux » pathologique.

Ce fait vient à l'appui de la théorie du spasme dans la pathogénie des coliques et ceci explique les succès thérapeutiques enregistrés dans le traitement des coliques par les simples calmants de la douleur, type morphine, où comme le propose Stassive (1955) (16) l'association d'un vagolytique tel que l'atropine à un sympatholytique tel le prosympal, qui, non seulement agit par lui-même d'une façon inhibitrice, mais encore, inverse les effets contracturants de l'adrénaline.

Ce traitement antispasmodique est suivi de l'administration d'alcaloïdes excitomoteurs afin de rétablir le péristaltisme et le transit intestinal.

Mais, dans la pratique, l'alimentation de base du cheval est constituée par une ration de foin de luzerne et pourtant cette administration n'entraîne pas systématiquement des coliques.

Nous pensons que c'est ici qu'intervient la bile.

D'une part, en dehors de ses propriétés, chimique et activatrice, la bile peut influencer légèrement le péristaltisme elle : active celui du gros intestin et ralentit celui de l'intestin grêle.

D'autre part, nous avons vu dans le premier chapitre que, si aux extraits de luzerne on ajoute de la bile fraîche, ces extraits perdent leurs propriétés contracturantes. Par contre, si la bile a été chauffée, elle n'inhibe plus l'action de la luzerne. La bile agit donc dans des conditions qui font penser à une action enzymatique.

Cet antagonisme rend compte en outre, d'un phénomène régulateur mis à la disposition de l'organisme du cheval.

Dans les conditions physiologiques normales, la bile supprime donc les propriétés pharmacodynamiques gênantes de la luzerne, mais si, pour une raison quelconque, ce mécanisme régulateur ne peut intervenir, le processus pathologique s'extériorise sous les formes du syndrome colique.

Chez les polygastriques, l'administration endoveineuse d'extrait de farine de luzerne, détermine (chez le mouton) une forte diarrhée, après un premier temps de ralentissement du péristaltisme.

Delafolie (2) a montré que cette inhibition de la motricité du rumen, peut expliquer la prédisposition des ruminants à la météorisation.

L'hypermotricité secondaire peut s'expliquer, d'une part, grâce à l'action directe du produit sur le muscle intestinal et d'autre part, grâce à l'augmentation de la sécrétion biliaire.

Cette constatation est à rapprocher du fait, connu des éleveurs qui, nourrissant les jeunes bovins à l'aide de farine du commerce à base de luzerne déshydratée, remarquent une diarrhée fréquente chez ces jeunes animaux.

Il convient donc de doser soigneusement le mélange des farines intervenant dans la composition de ces aliments dits complets.

CONCLUSION

Comme nous l'avons déjà mentionné au premier chapitre, l'action des extraits aqueux de certains végétaux sur la motricité du duodénum, est différente suivant l'espèce animale et suivant l'extrait utilisé; le duodénum du cheval manifestant une sensibilité particulière.

Des phénomènes du même ordre s'observent avec les extraits aqueux de farine de luzerne (Le Bars, Simonnet et coll., 1956).

Cet extrait détermine, sur les organes isolés maintenus en survie *in vivo*, une inhibition du duodénum de lapin et de rat, une contraction de l'iléon de cobaye et du duodénum de cheval, une augmentation de l'emplitude des contractions du duodénum de chien, une réaction double : inhibition suivie d'un effet moteur sur le duodénum d'agneau (8); une contraction du cæcum de poule.

Chez l'animal vivant l'administration directement dans le duodénum, de l'extrait, détermine un ralentissement de la motricité intestinale. Injecté directement par voie endoveineuse, l'extrait déprotéiné cause une inhibition de la motricité du rumen et une contraction du cæcum et du jéjunum.

L'âge des luzernes a une répercussion sur leur activité, mais l'importance de cet âge n'est pas si grande que l'on aurait pu le supposer au départ. A époque de végétation égale, les luzernes âgées sont légèrement plus actives que les luzernes jeunes sur la motricité intestinale.

Par contre, seule la luzerne jeune possède la propriété d'accélérer la sécrétion biliaire chez les petits ruminants et chez le cobaye.

Toutefois les extraits les plus actifs, quand on ne considère que les différentes étapes de la pousse d'une coupe, sont ceux effectués en début de pousse. Ceci est d'ailleurs en correspondance avec le pouvoir météorigène des jeunes luzernes.

Enfin, il convient d'insister sur l'importance pratique de ces propriétés. Nous avons vu que c'était un argument en faveur de la théorie du spasme des coliques du cheval.

En outre, chez les ruminants, ces propriétés expliquent le pouvoir météorigène des luzernes. Enfin, elles montrent que la valeur nutritive d'un aliment n'est pas seule à intervenir lors de son utilisation par l'organisme.

Un problème n'est pas encore éclairci : celui de la nature exacte de ou des produits actifs et du mode d'action de ces produits au sein même de la fibre musculaire lisse.

Vu : *Le Professeur de l'École Vétérinaire,*
Rapporteur,
LE BARS.

Vu : *Le Directeur de l'École Vétérinaire,*
P. PONS.

Vu : *Le Président de la Thèse,*
ROUX.

Vu : *Le Doyen,*
LAZORTHES.

Vu et permis d'imprimer :
Toulouse, 4 mai 1963.
Le Recteur,
Président du Conseil de l'Université,
DOTTIN.

BIBLIOGRAPHIE

1. ANNICOLAS (D.), DELAFOLIE (P.), LE BARS (H.), SIMONNET (H.). Rec. Méd. Vét., 1956, *132*, 391.

2. DELAFOLIE (P.). — Thèse Doct. Vét., Alfort, 1958.

3. EVANS (E.T.R.), EVANS (C.W.). — J. brit. Grassland Soc., 1948, *3*, 249.

4. EVANS (E.T.R.), EVANS (C.W.). — Nature, Londres, 1949, *163*, 373.

5. FERGUSON (W.S.). — Grassland conférence Handbook, 1948.

6. GUEGUEN (L.). — Ann. INRA Ann. Zoot., 1959, *3*, 245.

7. GUEGUEN (L.), FAUCONNEAU (G.). — Ann. INRA Ann. Zoot., 1960, *2*, 157.

8. JACQUOT (R.), LE BARS (H.), SIMONNET (H.). — Nutrition animale, vol. 1, Données générales sur la nutrition et l'alimentation, Baillère et Fils, Paris, 1958.

9. LEROY (A.M.), DELAGE (J.). — C.R. Journées études sur l'alimentation à la prairie, 1951, 53.

10. MONTSALIER (G.). — Thèse Doct. Vét., Toulouse, 1962.

11. PARSONS (A.R.), NEUMANN (A.L.), WHITEHAIR (C.K.) et SAMPSON (J.). J. Animal. Sci., 1955, *14*, 403.

12. SCHNEIDER (R.) and BISHOP (H.). — Brit. J. Pharmacol., 1960, *15*, 574.

13. SIMONNET (H.), LE BARS (H.) et CHAPPEVILLE (F.). — Rev. Path. Comp. Hyg. Gen., 1952, *52*, 303.

14. SIMONNET (H.), LE BARS (H.) et CHAPPEVILLE (F.). — C.R. Soc. Biol., 1952, *146*, 885.

15. SIMONNET (H.), LE BARS (H.) et CHAPPEVILLE (F.). — Bull. Acad. Vét., 1952, *25*, 221.

16. STASSIVE (W.). — Bull. Acad. Vét., 1955, *28*, 139.

17. STEWART (H.). — An. Rep. N.S. Agr. Exp. Sta., 1949-1950.

TABLE DES MATIÈRES

Introduction.

Chapitre I : Connaissances actuelles sur la question.

Chapitre II : Travaux personnels.

1° Techniques.

a) Préparation des extraits.

— Les poudres,
— Les extraits aqueux,
— Les extraits frais.

b) Matériel.

1. *In vitro.*

— duodénum de lapin,
— cæcum de poule,
— gros colon de rat,
— duodénum de cheval.

2. *In vivo.*

— sécrétion biliaire du cobaye,
— motricité intestinale des petits ruminants.

2° Luzernes utilisées.

3° Expérimentations.

a) *In vitro.*

— duodénum de lapin,
— duodénum de cheval,
— gros colon de rat,
— cæcum de poule.

b) *In vivo.*

1. motricité intestinale des petits ruminants.

— luzerne de 1 an,
— luzerne de 4 ans,
— mode d'action par voie endoveineuse.

2. sécrétion biliaire.

— chez les petits ruminants,
— chez le cobaye.

Chapitre III : Discussion.

a) Résultats.
b) Conséquences pratiques.

Conclusion.